

Identifikasi Potensi Enzim Lipase dan Selulase pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi

(Identification of Potential Lipase and Cellulase on Waste of Skin Fruit by Fermentation)

La Ode Sumarlin^{1*}, Dikdik Mulyadi², Suryatna², Yoga Asmara²

ABSTRAK

Fermentasi adalah salah satu biokonversi untuk menghasilkan mikrob anaerob yang menguntungkan dan dapat menghasilkan enzim. Lipase dan selulase merupakan bagian dari enzim yang secara luas telah banyak digunakan. Selulase berperan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa, protein sel tunggal, makanan ternak, dan etanol. Lipase juga dapat mendegradasi ikatan ester pada lemak, sehingga keduanya berpotensi untuk digunakan dalam berbagai bidang industri dan rumah tangga. Fermentasi sampah kulit buah merupakan upaya produksi selulase dan lipase yang dapat dilakukan secara sederhana. Aktivitas selulase diuji dengan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) dan titrasi asam-basa untuk analisis aktivitas lipase menggunakan minyak goreng sebagai substratnya. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas selulase yang paling tinggi dihasilkan pada sampel kulit buah semangka yang dicampur dengan kulit buah jeruk sebesar 0,036 U/mL dan sampel kulit buah pisang yang dicampur dengan kulit buah jeruk sebesar 0,035 U/mL. Aktivitas lipase optimum pada suhu 30 °C, pH 7, dan waktu reaksi 60 menit. Aktivitas lipase tertinggi (1,36 U/mL) diperoleh pada campuran kulit buah semangka dan jeruk. Dengan demikian sampah kulit buah sangat berpotensi untuk memproduksi selulase dan lipase dengan cara fermentasi.

Kata kunci: fermentasi, lipase, metode dinitrosalisilat, sampah kulit buah, selulase,

ABSTRACT

Fermentation is one of bioconversion to produce profitable anaerobic microbes and to produce various enzymes. Lipases and cellulases are widely used enzymes so far. Cellulases play an important role in bioconversion of organic waste cellulosic materials to glucose, single cell proteins, animal feed, and ethanol. Lipases can also degrade fatty ester bond. Therefore, both enzymes are potential to be used in industry as well as in households. Fermentation of fruit peel waste is an attempt to produce cellulase and lipase that can be carried out in a simple way. Cellulase activity was performed using DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) and acid-base titration for analysis of lipase using cooking oil as the substrate. The results showed that the highest cellulase activity was obtained from watermelon rind mixed with citrus fruit peel of 0.036 U/mL, and mixed of banana peel and citrus fruit, which was 0.035 U/mL. The optimum lipase activity was at 30 °C, pH 7, and reaction time of 60 minutes. The highest lipase activity (1.36 U/mL) was obtained from mixture of watermelon and orange rind. Thus, the fruit peel waste is potential to produce cellulase and lipase by fermentation.

Keywords: cellulase, DNS method, fermentation, fruit peel waste, lipase

PENDAHULUAN

Persampahan di Indonesia memberikan masalah tersendiri dan menjadi perhatian khusus. Sampah ini bisa dalam bentuk sampah organik (termasuk sampah hasil pertanian) maupun anorganik. Sampah organik yang dihasilkan berupa sisa-sisa sayuran (daun, batang, dan akar) dan kulit buah-buahan. Pengolahan sampah organik dengan proses fermentasi anaerobik bisa digunakan sebagai solusi untuk menanggulangi masalah sampah organik. Keuntungan yang bisa didapat dari proses fermentasi anaerobik ini di antaranya adalah kompos dan pupuk cair yang berguna dalam memperbaiki struktur kimia tanah.

Sampah organik hasil fermentasi dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim, hasil dari ekskresi dan metabolisme dari mikrob. Keadaan ini dapat terjadi

karena fermentasi merupakan proses biokonversi untuk menghasilkan mikrob anaerob yang menguntungkan dan dapat menghasilkan enzim. Di antara enzim yang dapat dihasilkan adalah lipase dan selulase.

Lipase (triasilgliserol asilhidrolase, EC3.1.1.3) adalah hidrolase serin yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas pada fase minyak-air (Kamini & Iefuji 2001; Gupta *et al.* 2004; Feng *et al.* 2013). Sifat biokatalitik lipase ini memungkinkan penggunaannya untuk berbagai keperluan seperti formulasi detergen (Thirunavukarasu *et al.* 2008), biosensor (Kartal *et al.* 2007), industri pangan (Ferrer *et al.* 2005), sintesis ester (Jin *et al.* 2013), dan pengolahan limbah (Tsuji *et al.* 2013).

Enzim lain yang juga penting adalah selulase. Selulase tidak dimiliki oleh manusia tetapi terdapat pada hewan seperti kambing, sapi, dan rayap karena dalam sistem pencernaannya mengandung bakteri dan protozoa yang menghasilkan selulase yang akan menghidrolisis ikatan glikosidik beta-1,4.

¹ Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Ciputat 15412.

² Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Sukabumi, Sukabumi 43113.

* Penulis korespondensi: E-mail: sumarlin@uinjkt.ac.id

Mengingat pentingnya kedua jenis enzim ini, keberadaannya di dalam suatu bahan perlu diketahui, terutama untuk memberi nilai tambah pada volume sampah kulit buah yang pada saat ini bermasalah.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan untuk fermentasi ialah kulit buah semangka, nangka, buah naga, jeruk, dan kelima campuran kulit buah; minyak kelapa sawit, bufer fosfat 0,05 M, aseton, alkohol, indikator fenoltalein (PP), KOH dalam alkohol 0,05 N, dan DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat).

Produksi Enzim

Air bersih dituangkan ke dalam botol kecil dengan nisbah tertentu, kemudian dicampurkan dengan sampah buah dan sayuran serta gula jawa dengan nisbah tertentu. Nisbahnya ialah air:sampah buah dan sisa sayuran:gula jawa = 10:3:1 dengan satuan tertentu. Fermentasi sempurna memerlukan waktu hingga 3 bulan tanpa sinar matahari. Pada 2 pekan pertama setelah pembuatan, tutup botol dibuka tidak lebih dari 2 kali sehari selama beberapa detik saja. Tindakan ini bertujuan agar gas hasil fermentasi dapat dibebaskan agar sistem (enzim di dalam botol) tidak memuai yang akan berakibat timbul tekanan tinggi yang dapat berakibat ledakan. Besarnya ledakan bergantung pada lamanya akumulasi gas hasil fermentasi.

Uji Aktivitas Lipase

Sebanyak 2 g minyak goreng sawit ditimbang dalam labu Erlenmeyer 150 mL. Setelah itu ditambahkan 1 ml larutan enzim encer hasil fermentasi yang telah disaring dan 4 ml larutan bufer fosfat 0,05 M, pH 7,5. Campuran diaduk dengan pengaduk magnetik selama 1 jam. Selanjutnya, ditambahkan 10 ml aseton-alkohol (1:1) dan diaduk hingga homogen. Indikator PP sebanyak 2–3 tetes ditambahkan pada larutan yang telah diaduk kemudian campuran dititrasi dengan KOH dalam alkohol 0,05 N. Titrasi dihentikan pada saat warna larutan menjadi merah jambu dan tidak hilang, lalu dicatat volume titrasinya. Larutan blanko dibuat dengan cara yang sama dengan

sampel, tetapi larutan aseton-alkohol (1:1) ditambahkan pada jam ke-0, sebelum diaduk, untuk mematikan enzim. Aktivitas enzim lipase dapat dihitung dengan cara sbb:

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{(A-B) \times N \text{ KOH} \times 1000}{60}$$

Dengan: A= ml KOH untuk titrasi sampel, B = mL KOH untuk titrasi blanko, faktor 1000 untuk konversi dari mmol ke μmol , dan 60 = waktu reaksi (1 jam = 60 menit).

Uji Aktivitas Selulase dengan Metode DNS

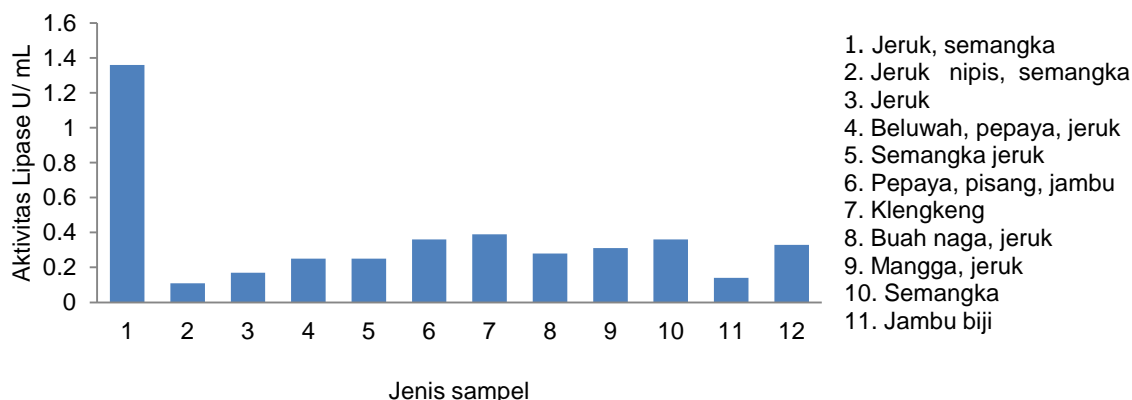
Aktivitas selulase ditetapkan dengan metode DNS (Miller 1959). Selulase dalam Erlenmeyer ditambahkan 25 ml bufer sitrat pH 6,0; 50 mm, divorteks 15 menit, dan disentrifuse selama 15 menit pada 3500 rpm, suhu 4–5 °C. Selanjutnya sebanyak 0,75 mL supernatan enzim dicampur dengan 0,75 mL 1% karboksimetil selulosa dalam bufer sitrat pH 6,0. kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, lalu ditambahkan 1,5 mL DNS. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit, didinginkan selama 20 menit, dan dibaca dengan spektrofotometer pada λ 575 nm. Aktivitas selulase dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{\text{kadar glukosa} \times \text{factor pengenceran}}{\text{berat molekul glukosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

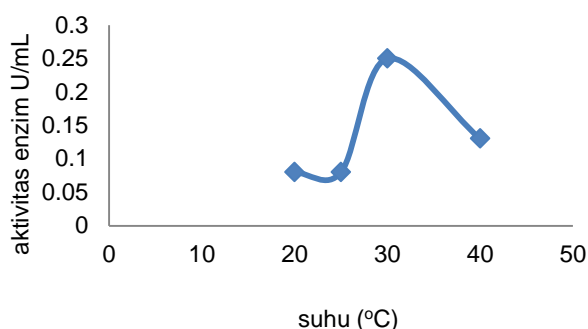
HASIL dan PEMBAHASAN

Keberadaan Lipase Hasil Fermentasi

Dari pengujian beberapa sampel, terdapat lipase yang mempunyai aktivitas yang berbeda-beda. Aktivitas tertinggi terdapat pada campuran buah jeruk dan semangka (Gambar 1). Sampel yang memiliki aktivitas tertinggi ini yang selanjutnya ditetapkan optimisasinya berdasarkan parameter suhu, pH, dan waktu inkubasi. Hasilnya menunjukkan bahwa suhu optimum pada enzim hasil fermentasi dengan kondisi suhu 20, 25, 30, dan 40 °C memperlihatkan aktivitas lipase tertinggi 0,25 U/mL, pada suhu 30 °C (Gambar 2).



Gambar 1 Aktivitas enzim pada setiap sampel kulit buah.



Gambar 2 Aktivitas lipase pada berbagai suhu.

Parameter pH yang juga dioptimisasi menunjukkan bahwa aktivitas lipase optimum pada pH 7 yang menunjukkan aktivitasnya berkisar 0,54 U/mL. Pada kondisi pH yang lain seperti pH 6 aktivitas enzim lipase lebih rendah, berkisar 0,13 U/mL, serta aktivitas pada pH 7,5 dan 8,0 menurun aktivitasnya, yaitu 0,25 dan 0,13 U/mL (Gambar 3).

Penentuan waktu hidrolisis lipid menjadi asam lemak dan gliserolnya juga diukur dan menunjukkan bahwa aktivitas lipase pada menit ke-30 sebesar 0,25 U/mL, pada menit ke-60 laju aktivitasnya naik menjadi 0,54 U/mL, dan pada menit ke 90 aktivitasnya menurun menjadi 0,39 U/mL (Gambar 4).

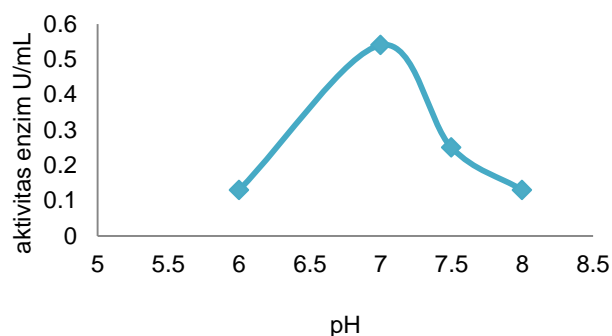
Aktivitas Enzim Selulase Hasil Fermentasi

Pengujian pada sampel kulit buah hasil fermentasi menunjukkan ada aktivitas enzim selulase yang cukup beragam. Pada penelitian ini juga diperoleh aktivitas selulase yang cukup baik pada sampel kulit buah semangka yang dicampur dengan kulit jeruk sebesar 0,036 U/mL dan sampel kulit pisang sebesar 0,035 U/mL dengan waktu inkubasi selama 30 menit (Gambar 5).

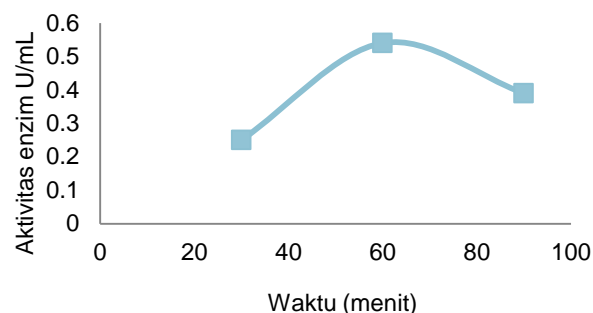
Prinsip pengujian keberadaan lipase tersebut menggunakan minyak sebagai substrat, yang dihidrolisis oleh lipase pada ikatan esternya menjadi gliserol dan asam lemaknya (Gambar 6). Asam lemak yang terbentuk diuji menggunakan titrasi asam basa menggunakan KOH dengan indikator PP. Indikator PP merupakan asam diprotik dan tidak berwarna. Indikator PP mula-mula berdisosiasi menjadi suatu bentuk tak berwarna dan kemudian dengan kehilangan hidrogen kedua menjadi ion dengan sistem terkonjugasi sehingga dihasilkan warna merah (Gambar 7).

Hasil analisis menunjukkan ada perbedaan aktivitas lipase yang dihasilkan karena hasil-hasil fermentasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut di antaranya adalah keberadaan substrat. Faktor ini penting karena jumlah substrat pada suatu lingkungan akan memicu mikrob untuk mengeluarkan enzim. Selain itu, galur mikrob yang berbeda pada setiap sampel akan turut memengaruhi perbedaan tingkat produksi dan aktivitas lipase yang beragam.

Faktor lain yang juga cukup memengaruhi hasil ini adalah waktu fermentasi. Pengaruh waktu fermentasi (waktu inkubasi) ini telah terlihat pada hasil penelitian Rajan dan Nair (2011). Penelitian memperlihatkan bahwa aktivitas lipase akan meningkat sampai aktivitas maksimumnya dan setelah itu akan meng-



Gambar 3 Aktivitas lipase pada berbagai pH.

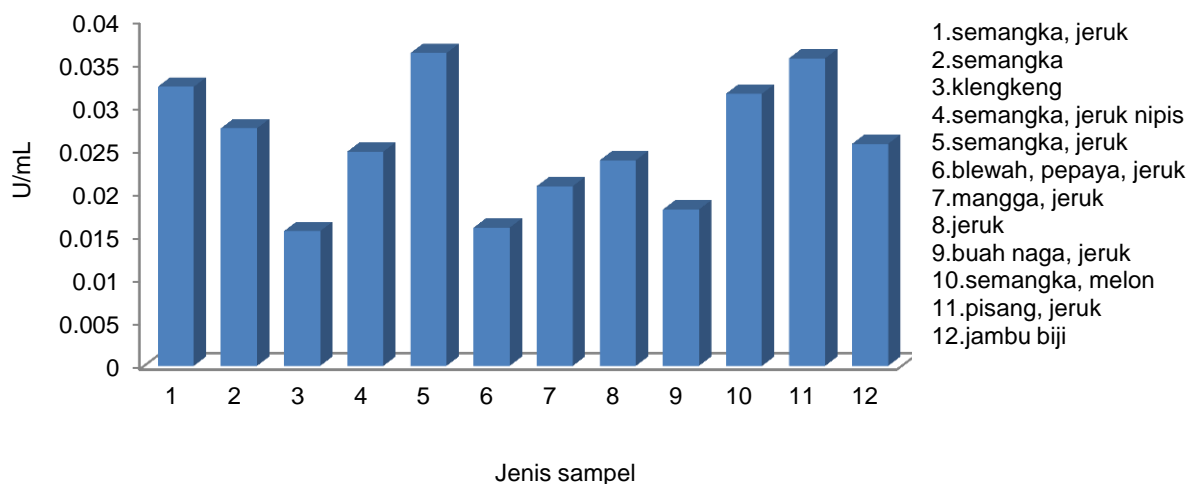


Gambar 4 Aktivitas lipase berdasarkan waktu hidrolisis.

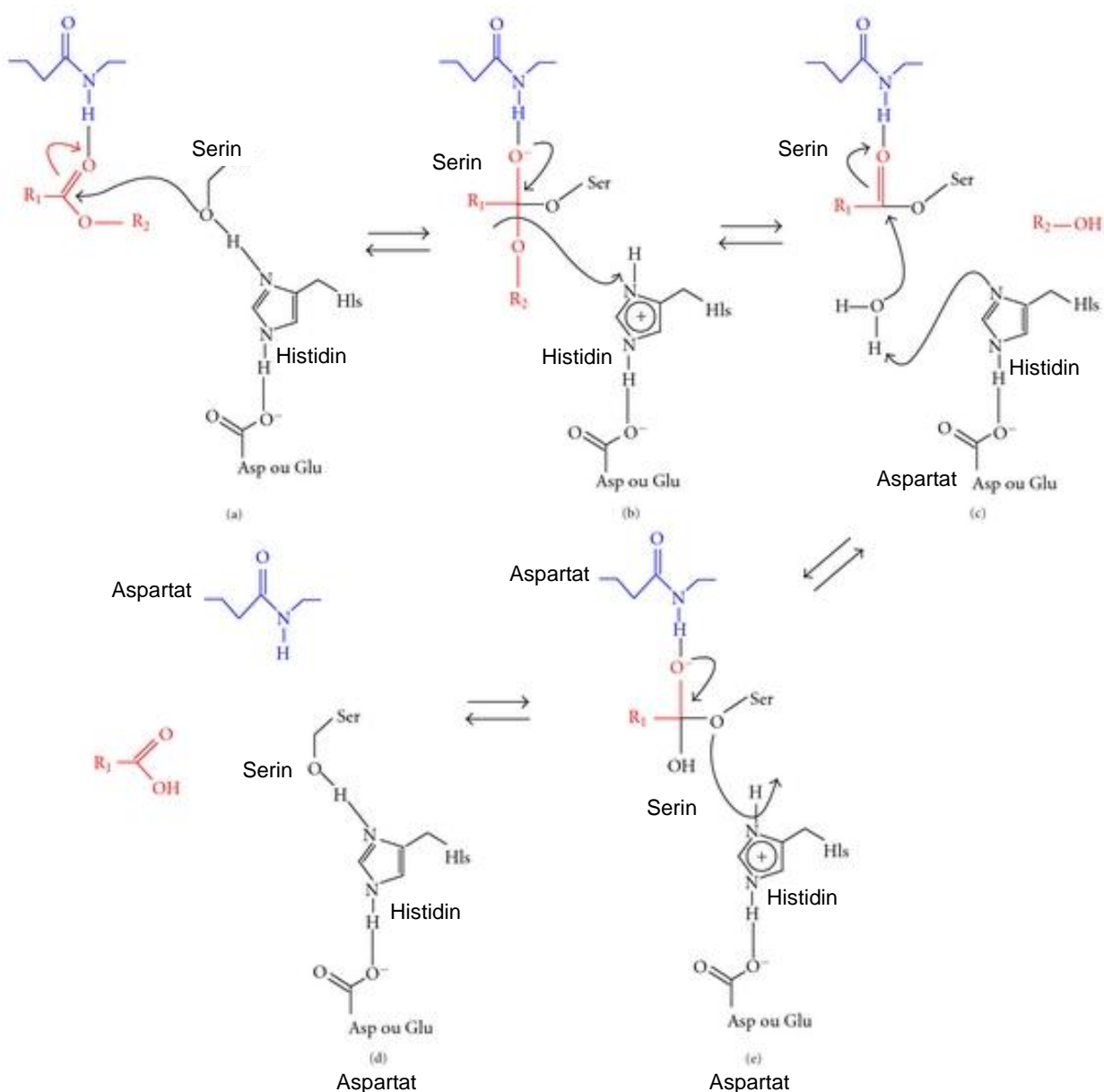
alami penurunan. Keberadaan nutrisi pada saat fermentasi juga akan berkontribusi terhadap pertumbuhan mikroorganisme dan akan terjadi penurunan jumlah mikroba (fase kematian) dari waktu ke waktu yang dapat mempengaruhi produksi enzim dan aktivitas enzim (Tamires *et al.* 2011).

Keberadaan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antimikrob pada buah masing-masing juga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri penghasil enzim. Chanda *et al.* (2010) menguji aktivitas antimikrob yang dapat menghambat pertumbuhan dengan laju berbeda-beda. Akibatnya lipase yang dihasilkan akan beragam baik jumlah maupun aktivitasnya. Hasil tertinggi lipase yang dihasilkan pada kombinasi semangka dan jeruk. Keberadaan lipase pada semangka telah diteliti oleh Gulati *et al.* 2005 yang menghasilkan lipase 868 ± 95 U/L dan aktivitas spesifik $2,11 \pm 0,37$ U/mg protein. Di sisi lain, keberadaan lipase pada kulit dan buah jeruk telah diteliti oleh Delgado dan Fleura (2014) yang menemukan produksi lipase sebesar 68,5 U/g.

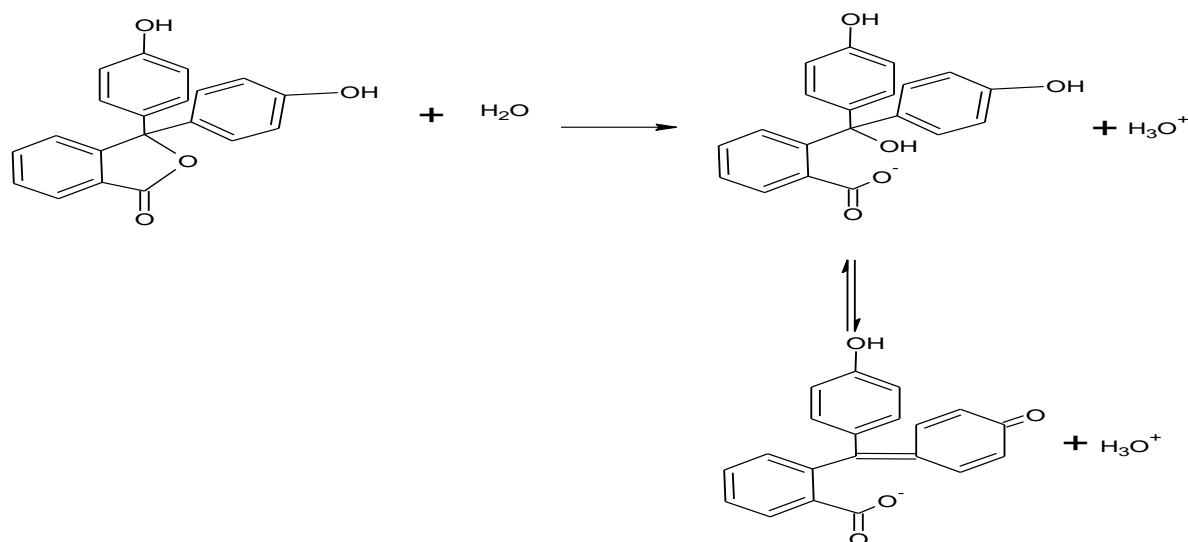
Optimisasi suhu sangat penting dalam aktivitas enzim. Daniel dan Danson (2013) melalui studi pendekatan model kesetimbangan menjelaskan bahwa perubahan suhu memiliki potensi mengubah muatan enzim dan distribusi muatan enzim pada sisi aktifnya. Selain itu, sisi aktif yang dipengaruhi suhu akan berimplikasi pada bentuk struktural, metabolik, dan ekologis enzim. Pengaruh suhu ini juga diakibatkan oleh adanya struktur tiga dimensi enzim yang sensitif terhadap suhu (*thermo-sensitif*) dan menjadi tidak stabil pada suhu tinggi yang akan menyebabkan denaturasi. Akhirnya, pada suhu tinggi aktivitas enzim mengalami penurunan (Bisswanger 2013).



Gambar 5 Aktivitas selulase pada setiap sampel kulit buah.



Gambar 6 Mekanisme hidrolisis lipid oleh enzim lipase (Ribeiro *et al.* 2011).



Gambar 7 Mekanisme pembentukan warna pada indikator fenoltalein (Underwood 2001).

Dari penelitian sebelumnya oleh Busamara *et al.* (2008) pada fermentasi khamir dengan substrat paranitrofenol palmitat, suhu optimum sekitar 50 °C dan penelitian sebelumnya oleh Murni *et al.* (2011) telah berhasil mengisolasi lipase dari *Aspergillus niger* pada suhu 30 °C. Perbedaan suhu optimum ini dimungkinkan karena pengaruh suhu ini sangat terkait dengan jenis mikrob dan waktu perlakuan (Bisswanger 2013).

Parameter pH juga menggambarkan pH optimum yang menurunkan aktivitas setelah pH ini tercapai. Dinamika aktivitas lipase akibat pengaruh pH ini merupakan gambaran umum sifat enzim terhadap pH. Bisswanger (2013) menjelaskan bahwa ada 2 (dua) faktor yang mempengaruhi sifat enzim pada pH tertentu, yaitu (1). Kondisi protonasi gugus fungsional asam amino dan kofaktor yang terlibat dalam reaksi katalitik dan (2). Struktur tiga dimensi protein enzim. Protonasi yang bersifat reversibel tersebut akan merusak struktur protein yang sebagian besar bersifat ireversibel. Hal inilah yang terjadi pada kondisi setelah pH optimum enzim tercapai yaitu penurunan aktivitas enzim.

Pada pH optimum muatan gugus samping asam amino berada pada keadaan yang sesuai sehingga enzim sangat efisien dalam mempercepat reaksi. Kebanyakan enzim tidak aktif pada nilai pH yang ekstrem. Hal tersebut karena nilai pH yang ekstrem dapat merusak protein yang merupakan komponen penyusun enzim (Rahman *et al.* 2004). Yuzo dan Sakaya (2003) menerangkan bahwa bakteri lipase akan stabil pada pH optimum 6–8. Namun kestabilannya akan menurun jika pH di atas 8.

Hasil penelitian Asih *et al.* 2011 ditemukan bahwa lipase yang berasal dari bakteri memiliki pH optimum 7,0 dengan minyak zaitun sebagai substratnya. Sementara itu, pada penelitian Rodibillah *et al.* 2011 aktivitas optimum lipase dari *rhizopus oryzae* dengan fermentasi padat menggunakan substrat CPO (*Crude Palm Oil*) adalah 6,0. Hal yang sama sebelumnya dilakukan penelitian oleh Busamara *et al.* 2008 pada fermentasi khamir dengan substrat paranitrofenol palmitat kondisi optimumnya adalah 7,0. Ini merupakan indikasi bahwa sumber

mikrob penghasil lipase serta jenis substrat akan mempengaruhi pH optimum aktivitas lipase.

Hal yang sama juga terjadi ketika uji waktu optimum. Pada menit-menit awal, semua enzim belum bereaksi seluruhnya dengan substrat. Kemudian pada menit ke-60 semua enzim seluruhnya bereaksi dengan substrat. Pada menit ke-90 terjadi penurunan aktivitas enzim, Hal ini diakibatkan oleh jumlah substrat dalam larutan sudah berkurang (Gambar 4). Hasil penelitian sebelumnya oleh Busamara *et al.* 2008 pada fermentasi khamir dengan substrat paranitrofenol palmitat waktu optimum dari proses hidrolisis pada menit ke-60.

Pada penelitian ini dilakukan pula pengujian aktivitas selulase. Prinsip pengujian aktivitas selulase ini didasarkan pada pengukuran kemampuan enzim menghidrolisis CMC (*Carboxy methyl cellulose*) menjadi struktur yang lebih sederhana, yaitu menghasilkan selobiosa dan glukosa. Produk ini diuji menggunakan pereaksi DNS (3,5 asam dinitrosalisilat) dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 540 nm (Winterhalter & Liebl 1995). Reaksi dengan DNS yang terjadi merupakan reaksi redoks pada gugus aldehyd gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Sementara itu DNS sebagai oksidator akan tereduksi membentuk 3-amino dan asam 5-dinitrosalisilat (Gambar 8).

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas selulase menggambarkan bahwa adanya mikrob yang golongan mikrob selulolitik. Mikrob ini memiliki kemampuan untuk melakukan proses pemecahan selulosa menjadi struktur yang lebih sederhana, yaitu glukosa. Jika glukosa ini bereaksi dengan asam 3,5 dinitrosalisilat akan menunjukkan perubahan warna dari kuning menjadi coklat kemerahan. Perbedaan aktivitas selulase pada setiap tersebut dapat disebabkan oleh sifat spesifik mikrob dalam mendekomposisi komponen-komponen substrat yang beragam. Mekanisme dekomposisi ini telah dijelaskan oleh Sadhu dan Maiti (2013) bahwa mekanisme kerja selulase pada sistem bakteri melalui beberapa kemungkinan, yaitu (1). Adhesi melalui kompleks yang menyerupai selulosom, (2). Adhesi melalui fibril atau vili, (3). Adhesi melalui epitop

karbohidrat glikokaliks bakteri, (4). Adhesi melalui domain *binding*-selulosa pada enzim selulotik. Akhirnya sampai pada tahapan pelepasan glukosa.

Peningkatan aktivitas selulase diimbangi oleh faktor sifat mikroorganisme terhadap lingkungan, kandungan nutrisi, suhu, pH, dan jumlah substrat (Pasaribu *et al.* 2010). Selain itu, disebabkan juga mikroorganisme yang terdapat dalam sampel tersebut mampu mendegradasi substrat secara optimal dengan menggunakan selulosa sebagai nutrisi utama (Irawan *et al.* 2008).

Hasil analisa menunjukkan bahwa sampel yang berasal dari kulit buah semangka yang difermentasi cenderung menghasilkan aktivitas selulase yang cukup baik dibanding dengan sampel yang tidak mengandung kulit buah semangka (Gambar 5). Kecenderungan ini kemungkinan disebabkan pada kulit buah semangka yang digunakan sebagai bahan pembuatan enzim sampah masih terdapat kandungan karbohidrat yang berasal dari sisa-sisa buah semangka. Hal ini diperkuat dengan penelitian Al-Sayed dan Ahmed (2013) yang menyatakan kulit semangka (*C. lanatus*) mengandung karbohidrat sebesar 56,02% (berat kering). Penelitian Candir *et al.* (2013) terhadap buah semangka menunjukkan bahwa di dalam buah semangka terkandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Menurut Yau *et al.* (2010) menemukan bahwa buah semangka tanpa biji mengandung fruktosa 2,04–2,51%, glukosa 1,10–1,68% dan sukrosa 0,44–0,92%.

Begitu juga dengan hasil pengujian sampel kulit pisang yang dicampur dengan kulit jeruk menunjukan hasil aktivitas enzim selulase yang cukup baik dibandingkan dengan sampel yang tidak mengandung kulit pisang dan kulit semangka. Rosyana (1995) mengemukakan bahwa di dalam kulit pisang mengandung pati 47,46% dan serat kasar 18,61% yang baik untuk pertumbuhan mikroba. Karbohidrat dan serat kasar merupakan sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme dalam mesintesis selulase (Rosyana 1995).

Aktivitas enzim yang dihasilkan pada penelitian ini bisa dikatakan cukup baik apabila dibandingkan dengan aktivitas enzim yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil penelitian terdahulu telah dilakukan pengujian aktivitas selulase dengan hasil yang juga bervariasi

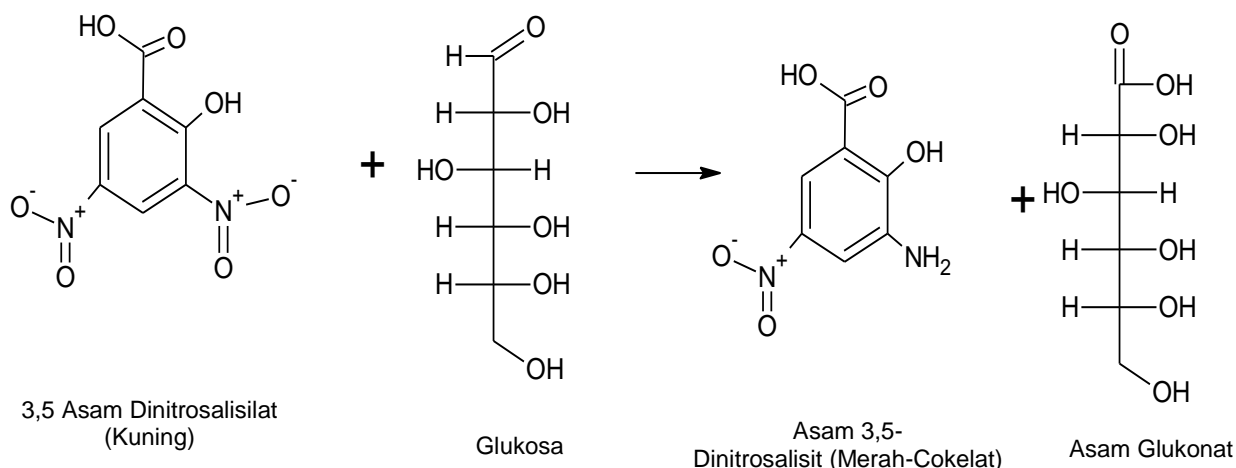
pada berbagai bahan baku. Hal ini menunjukkan bahwa pada bahan baku yang berbeda akan menghasilkan aktivitas selulase yang berbeda pula.

Selulase ini bersifat inducibel, yaitu enzim yang dihasilkan sebagai tanggapan terhadap jenis makanan yang terdapat di dalam lingkungan pertumbuhan organisme penghasilnya. Enzim utama yang terlibat dalam proses degradasi selulosa adalah endoglukanase (EGS), selobiohidrolase (CBHs), dan β -glukosidase, yang bekerja secara sinergis untuk mendegradasi selulosa (Krogh *et al.* 2009). Menurut Singhanian *et al.* (2010) selulase adalah kelompok enzim yang terdiri dari endoglukanase, selobiohidrolase (eksoglukanase), dan β -glukosidase.

Menurut Schlegel (1994) mekanisme pemecahan selulosa oleh selulase sekurang-kurangnya terdiri dari tiga enzim, yaitu (1). Enzim-enzim endo- β -1,4-glukanase mempengaruhi secara serentak ikatan β -1,4 di dalam makromolekul dan menghasilkan potongan-potongan besar berbentuk rantai dengan ujung-ujung bebas, (2). Enzim ekso- β -1,4-glukanase memotong mulai dari ujung-ujung rantai, disakarida selobiosa, (3). Enzim-enzim β -glukosidase menghidrolisis selobiosa dengan membentuk glukosa.

Pada sampel kulit buah yang lain, aktivitas selulase lebih rendah dibanding dengan sampel yang mengandung kulit semangka dan sampel yang mengandung kulit pisang. Hal ini dapat disebabkan kandungan karbohidrat maupun serat kasar sebagai makanan bagi mikroorganisme pada kulit buah lebih rendah, sehingga tidak bisa mencukupi nutrisi bagi mikroorganisme untuk dapat hidup dengan optimal. Penurunan kadar lipase pada proses fermentasi lebih dari 14 hari telah diteliti oleh Dewi (2013).

Pola menurunnya aktivitas enzim ini telah dinyatakan oleh Ganjar *et al.* (2006) bahwa sel-sel khamir dibatasi oleh toleransi terhadap etanol, suhu, dan tekanan osmotik dalam medium fermentasi. Ketika etanol terakumulasi cukup banyak di dalam medium, maka pertumbuhan khamir akan terhambat, sehingga akhirnya sel akan mati. Meningkatnya konsentrasi etanol dalam medium juga menyebabkan struktur sel berubah. Toksisitas terhadap etanol juga memengaruhi sel melalui perubahan pada membran fosfolipid dan melemahkan struktur membran, yang menyebabkan isi sel merembes keluar.



Gambar 8 Proses reaksi perubahan warna pada pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (Miller 1959).

Tabel 1 Aktivitas selulase dari berbagai sumber

Sampel	Mikrob	Selulase	Aktivitas enzim (U/mL)	Sumber
Ampas tebu	<i>Trichoderma viride</i>	Ada	0,0458	Gunam <i>et al.</i> 2011
Jamur	<i>Aspergillus</i> sp	Ada	0,0612	Subowo 2010
	<i>Mucor</i> sp	Ada	0,0159	
	<i>Penicillium</i> sp	Ada	0,0195	
Kulit nanas	<i>Aspergillus Niger</i>	Ada	0,0369	Pasaribu <i>et al.</i> 2010
Jerami padi	<i>Aspergillus Niger</i>	Ada	0,0792	Sa'adah <i>et al.</i> 2010
Kulit pisang	<i>Trichoderma Viride</i>	Ada	0,139	Rosyana 1995
	<i>Trichoderma reesei</i>	Ada	0,0855	

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sampah kulit buah hasil fermentasi selama 3 bulan dapat menstimulasi enzim dalam sampah memproduksi lipase dan selulase. Campuran limbah kulit semangka dan jeruk memberikan aktivitas lipase tertinggi, yaitu 1,36 U/mL. Produksi optimum lipase terjadi pada suhu 30 °C, pH 7, dan waktu reaksi 60 menit. Komposisi yang berbeda pada sampah kulit buah menunjukkan perbedaan aktivitas selulase. Sampel yang berasal dari kulit buah semangka dan kulit buah pisang cenderung menghasilkan aktivitas enzim selulase yang cukup baik, yaitu 0,036 dan 0,035 U/mL dibandingkan dengan sampel limbah kulit buah lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Ketua Lembaga Penelitian UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memberikan bantuan dana penelitian individual tahun anggaran 2013 dan kepada Kepala Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Sayed HMA, Ahmed AR. 2013. Utilization of watermelon rinds and sharilyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake. *Annals of Agric. Sci.* 58(1): 83–95.
- Alvarez R, Liaden G. 2007. Semicontinuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure, and fruit and vegetable waste. *J Renew Energy*. 33: 726–734.
- Asih S. 2011. Karakterisasi enzim hidrolase bakteri dari mata air soda Parbubu, Tapanuli Utara. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Bisswanger H. 2013. Review: Enzyme assays. *Perspectives in Science*. 1:41–55.
- Bussamara R, Fuentesfria MA, Oliveira ES, Broetto L, Simcikova M, Valente P, Schrank A, Vainstein MH. 2008. Isolation of lipase secretion yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation. *Biores Technol*. 101: 268–275.
- Chanda S, Bravalia Y, Kaneria M, Rakholiya K. 2010. Fruit and Vegetable peels- strong natural source of antimicrobics. *Curent Research, Technology and Education Topic in Appl Microbiol Microb Biotechnol.*: 444–450.
- Daniel RM, Danson MJ. 2013. Review: Temperature and the catalytic activity of enzymes: A fresh understanding. *FEBS Letters*. 587: 2738–2743.
- Delgado CIH, Fleuri LH. 2014. Short communication: Obtaining lipases from by products of orange juice processing. *Food Chem*. 163: 103–107.
- Dewi ERS. 2013. Kadar Lipase dan Protease pada Fermentasi Kombucha dengn Variasi Teh (*Camelia sinensis*). *Bioma*. 2(1): 64–73.
- Feng X, Patterson DA, Balaban M, Emanuelsson EAC. 2013. Characterization of tributyrin hydrolysis by immobilized lipase on woollen cloth using conventional batch and novelspinning cloth disc reactor. *Chem. Eng. Res. Des*. 91: 1684–1692.
- Ferrer M, Soliveri J, Plou FJ, Cortes LN, Duarte RD, Christensen M, Patino CJL, Ballesteros A. 2005. Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties. *Enzyme Microb. Technol*. 36: 391–398.
- Gulati R, Isar J, Kumar V, Prasad AK, Parmar VS, Saxena RK. 2005. Production of a novel alkaline lipase by *Fusarium globulosum* using neem oil, and its applications. *Pure Appl. Chem*. 77(1): 251–262.
- Ganjar I, Sjamsurdzal W, Oetari A. 2006. *Mikologi dasar dan terapan yayasan Obor Indonesia*. Jakarta (ID).
- Gunam IBW, Aryanta WR, Darma IBNS. 2011. Produksi selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* dengan perlakuan konsentrasi substrat ampas tebu dan lama fermentasi. *J Biol*. 15: 29–33.
- Gupta R, Gupta N, Rath P. 2004. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 64: 763–781.

- Irawan B, Sutihat, Sumardi. 2008. *Uji aktivitas enzim selulase dan lipase pada mikrofungi selama proses dekomposisi limbah cair kelapa sawit dengan pengujian kultur murni*. Bandar Lampung (ID): Universitas Lampung. 284–291.
- Jin Z, Liang S, Zhang X, Han S, Ren C, Lin Y, dan Zheng S. 2013. Synthesis of fructose laurate esters catalyzed by aCALB-displaying *Pichia pastoris* whole-cell biocatalyst in anon-aqueous system. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 18: 365–374.
- Kim DW, Jeong YK, Jang YH, Lee JK. 1984. Purification and characteristic of endoglucanase and exoglucanase component from *Trichoderma viride*. *J Ferment Bioeng.* 77(4): 363–369.
- Kamini NR, Iefuji H. 2001. Lipase catalyzed methanolysis of vegetable oils in aqueous medium by *Cryptococcus* spp. S-2. *Process Biochem.* 37: 405–410.
- Kartal F, Kilinc A, Timur S. 2007. Lipase biosensor for tributyrin and pesticide detection. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 87: 715–722.
- Krogh KBRM, Kastberg H, Jørgensen CI, Berlin A, Harris PV, Olsson L. 2009. Cloning of a GH5 endoglucanase from genus *Penicillium* and its binding to different lignins. *Enzyme and Microbial Technology.* 44: 359–367.
- Miller GL. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent of Determination of Reducing sugar. *Anal Chem.* 31: 246–248.
- Murni SW, Kholisoh DS, Tanti DI, Petrisia EM. 2011. Produksi, karakterisasi, dan isolasi lipase dari *Aspergillus niger*. *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumberdaya Alam Indonesia*. ISSN 1693-4393.
- Pasaribu FL, Yenie E, Muria SR. 2010. *Pengaruh konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas (Ananas Comosus L.Merr)*. Pekanbaru (ID): Universitas Riau.
- Rahman M, Sen PK, Hasan FM, Miah, Rahman HM. 2004. Purification and Characterization of Invertase Enzyme from Sugarcane. *J Biol Sci.* 7(3): 340–345.
- Rajan A, Nair J. 2011. A comparative study on alkaline lipase production by a newly isolated *Aspergillus fumigatus* MTCC 9657 in submerged and solid-state fermentation using economically and industrially feasible substrate. *Turk J Biol.* 35: 569–574.
- Ribeiro BD, de Castro Am, Coelho MA, Freire DM. 2011 *Production an use of lipases in bioenergy: A Review: The Feedstock to Biodiesel Production*. University of Rio de Janeiro (BR). Brazil.
- Rodibillah S, Muharam S, Panji T. 2011. *Produksi Diasilgliserol (DAG) sebagai Minyak Sehat dan Emulsifier dan Emulsifier dari Crude Palm Oil (CPO)*. [Skripsi]. Sukabumi (ID): Universitas Muhammadiyah Sukabumi.
- Rosyana E. 1995. *Pemanfaatan Kulit Pisang Untuk Produksi Enzim Selulase*. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sa'adah Z, Noviana IS, Abdullah. 2010. Produksi Enzim Selulase Oleh *Asperillus niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Frementasi Padat. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- Sadhu S, Maiti TK. 2013. Cellulase Production by Bacteria: A Review. *British Microb. Research J.* 3(3): 235–258.
- Schlegel HG. 1994. *Mikrobiologi umum*. Ed. Keenam. Terjemahan: Baskoro, RMT dan Wattimena JR. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta (ID).
- Singhania RR, Sukumaran RK, Patel AK, Larroche C, Pandey A. 2010. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. *Enzyme Microb. Technol.* 46: 541–549.
- Subowo YB. 2010. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Ligninase Dari Beberapa Jamur dan Potensinya Sebagai Pendukung pertumbuhan Tanaman Terong (*Solanum Melongena*). Bogor (ID): Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Tamires CS, Gomes DPP, Bonomo RCF, Franco M. 2011. Optimization of Solid State Fermentation of Potato Peel for The Production of Cellulolytic Enzymes. *Food Chem.* 133: 1299–1304.
- Thirunavukarasu K, Edwinoliver NG, Anbarasan SD, Gowthaman MK, Iefuji H, Kamini NR. 2008. Removal of triglyceride soil from fabrics by a novel lipase from *Cryptococcus* sp. S-2. *Process Biochem.* 43: 701–706.
- Underwood AL, Raday JR. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif* ed. 6 penerjemah: Iis Sopyan, Jakarta (ID): Erlangga. Terjemahan dari *Quantitative Analysis*: 141.
- Winterhalter C, Liebl W. 1995. Two extremely thermostable xylanase of the hyper-thermophilic bacterium *Thermotoga maritima* MSBB Appl Environ Microbiol. 61(5):1810–1815.
- Yau EW, Rosnah S, Noraziah M, Chin NL, Osman H. 2010. Physico-chemical compositions of the red seedless watermelons (*Citrullus Lanatus*) *International Food Research J.* 17: 327–334.
- Yuzo K, Sakaya S. 2003. Purification and characterization of the lipase from *Pseudomonas fluorescens* HU 380. *J. of biosci. and bioengin.* 96(3): 211–226.